

Trabajo de grado para aspirar al título de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Leishmaniasis Visceral en Animales: Revisión Sistemática de la Literatura y Meta-
Análisis

Por:

Yudy Tatiana Castiblanco García

Yennifer Vanesa Colorado

Asesores:

Alfonso J. Rodríguez Morales.

Diana Katterine Bonilla Aldana.

Universidad Tecnológica de Pereira

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Pereira, 2020

Leishmaniasis Visceral en Animales: Revisión Sistemática de la Literatura y Meta-Análisis

Yudy Tatiana Castiblanco García,^{1,2} Yennifer Vanesa Colorado,^{1,2} Alfonso J. Rodríguez Morales^{1,2,3,4}, D. Katterine Bonilla Aldana^{1,5}

¹Grupo y Semillero de Investigación y Salud Pública e Infección, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

²Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

³Codiirector Grupo y Semillero de Investigación en Salud Pública e Infección, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

⁴Investigador Senior MinCiencias, Colombia.

⁵Investigador Senior MinCiencias, Colombia.

Resumen

Introducción: La leishmaniasis visceral (LV) sigue siendo un importante problema de salud pública en el Viejo Mundo, como en el Neotrópico. Su prevalencia en seres humanos en zonas endémicas de países de América Latina como Brasil, Venezuela y Colombia, es particularmente importante. Esta es una considerable zoonosis parasitaria causada por *Leishmania infantum/chagasi* (syn.) en el complejo *Leishmania (Leishmania) donovani*. Su prevalencia en animales es muy variable y pese a la gran cantidad de estudios no hay consenso del rango o intervalo de credibilidad que podría generarse por la síntesis de estudios en un meta-análisis.

Métodos: Realizamos una revisión sistemática de la literatura con meta-análisis, utilizando seis bases de datos para evaluar la infección por *L. infantum/chagasi* en animales. Realizamos un meta-análisis con un modelo de efectos aleatorios para calcular las prevalencias agrupadas y el intervalo de confianza del 95% (IC del 95%).

Resultados: Se obtuvo un total de 70.36 artículos (1960-2019). Después de la selección por resumen/título, se seleccionaron 75 artículos para la evaluación de texto completo. De ellos, 65 fueron finalmente incluidos para análisis cualitativos y

cuantitativos. De un total de 29 estudios (n=22.259 animales), la seroprevalencia combinada por ELISA en perros fue de 20,6% (IC95%:17.0-24.1%); por IFI/IFAT (n=15.348) fue de 18,0% (IC95%:14,3-21,7%); por DPP (n=10.607) de 15,6% (IC95%:8,4-22,8%); por DAT (n=3.923) de 16,4% (IC95%:7,3-25,4%); y la prevalencia por PCR (n=3.303) de 39,2% (IC95%:30,6-47,7%). En gatos (6 estudios), la seroprevalencia combinada por ELISA (n=391) fue de 34,0% (IC95%:7,3-60,6%), por IFI/IFAT (n=561) de 18,5% (IC95%:6,6-30,5%), y la prevalencia por PCR (n=865) de 6,2% (IC95%:2,9-9,5%).

Conclusiones: Las prevalencias por pruebas moleculares mostraron valores significativamente más altos en perros que en gatos para LV (>10 veces), en tanto no se observaron diferencias significativas en seroprevalencias (~6-60%). Estos hallazgos son coherentes con lo planteado históricamente en torno a la importancia del perro (*Canis lupus familiaris*) como reservorio de la LV. Sin embargo, en algunos países con reemergencia de LV, como es el caso de Venezuela, el papel del gato (*Felis silvestris catus*) debe reevaluarse, dado que ciertos estudios han encontrado en ellos alta prevalencia, por lo cual se deben llevar a cabo más estudios. El hallazgo reciente de un caso de LV canina en Cali, Colombia, preocupa y llama la atención al estar fuera de los departamentos clásicamente endémicos del país y también implicaría realizar estudios, al menos de seroprevalencia en caninos en este y otros departamentos.

Palabras clave: leishmaniasis visceral; *Leishmania infantum/chagasi*; perros; gatos; epidemiología; meta-análisis.

Abstract

Introduction: Visceral leishmaniasis (LV) continues to be a major public health problem in the Old World, as in the Neotropics. Its prevalence in humans in endemic areas of Latin American countries such as Brazil, Venezuela and Colombia is particularly important. This is a considerable parasitic zoonosis caused by *Leishmania infantum* / *chagasi* (syn.) In the *Leishmania* (*Leishmania*) *donovani* complex. Its prevalence in animals is highly variable and despite the large number of studies there is no consensus on the range or credibility interval that could be generated by the synthesis of studies in a meta-analysis.

Methods: We performed a systematic review of the literature with meta-analysis, using six databases to assess *L. infantum/chagasi* infection in animals. We performed a meta-analysis with a random effects model to calculate the pooled prevalences and the 95% confidence interval (95% CI).

Results: A total of 70.36 articles were obtained (1960-2019). After selection by abstract / title, 75 articles were selected for full-text evaluation. Of these, 65 were finally included for qualitative and quantitative analyzes. Of a total of 29 studies (n = 22,259 animals), the combined seroprevalence by ELISA in dogs was 20.6% (95% CI: 17.0-24.1%); by IFI / IFAT (n = 15,348) it was 18.0% (95% CI: 14.3-21.7%); by DPP (n = 10,607) of 15.6% (95% CI: 8.4-22.8%); by DAT (n = 3,923) of 16.4% (95% CI: 7.3-25.4%); and the prevalence by PCR (n = 3,303) of 39.2% (95% CI: 30.6-47.7%). In cats (6 studies), the combined seroprevalence by ELISA (n = 391) was 34.0% (95% CI: 7.3-60.6%), by IFI / IFAT (n = 561) of 18.5 % (95% CI: 6.6-30.5%), and the PCR prevalence (n = 865) of 6.2% (95% CI: 2.9-9.5%).

Conclusions: The prevalences by molecular tests showed significantly higher values in dogs than in cats for LV (> 10 times), while no significant differences in seroprevalences were observed (~6-60%). These findings are consistent with what has been historically stated regarding the importance of the dog (*Canis lupus familiaris*) as a reservoir of LV. However, in some countries with LV reemergence, as is the case of Venezuela, the role of the cat (*Felis silvestris catus*) must be re-evaluated, since certain studies have found high prevalence in them, therefore more should be carried out. studies. The recent

finding of a case of canine LV in Cali, Colombia, worries and draws attention to being outside the classically endemic departments of the country and would also imply conducting studies, at least of seroprevalence in canines in this and other departments.

Key words: visceral leishmaniasis; *Leishmania infantum* / *chagasi*; dogs; cats; epidemiology; meta-analysis.

Introducción

Los parásitos del género *Leishmania* se separan en dos grupos: dermatropos causales de la leishmaniasis tegumentaria (cutánea y mucocutánea), y viscerotropos causales de la leishmaniasis visceral (LV) (o Kala-Azar) (1-3). La LV sigue siendo un importante problema de salud pública en el Viejo Mundo, ej. en el Mediterráneo, Medio Oriente y en África, así como también en el Neotrópico. Su prevalencia en seres humanos en zonas endémicas de países de América Latina como Brasil, Venezuela y Colombia es particularmente importante (4, 5). Esta es endémica en regiones tropicales y subtropicales de al menos 90 países en cinco continentes, que se reporta además no solo en población que vive en las mismas, sino también en viajeros a zonas endémicas.

La LV es endémica en Asia, especialmente en el norte de India, en el Medio Oriente, en África, especialmente del Este, en los países del Mediterráneo, como España e Italia, norte de África, como Marruecos, y en América Latina, especialmente en Brasil, Venezuela y Colombia. En Colombia, la LV, como en el Neotrópico, es causada por *L. infantum/chagasi* (syn.), la cual hace parte del complejo *Leishmania* (*Leishmania*) *donovani*.

Esta es una considerable zoonosis parasitaria, su prevalencia en animales es muy variable y pese a la gran cantidad de estudios no hay consenso del rango o intervalo de credibilidad que podría generarse por la síntesis de estudios en un meta-análisis. La LV sigue siendo un problema de salud pública muy importante, donde existen muchos aspectos que pueden potencialmente ser objeto de intervención para su prevención, entre estos la transmisión zoonótica, de perros a humanos, a través de especies vectoras del género *Lutzomyia*, como *Lu. longipalpis* o *Lu. evansi*. A pesar de ello, no existe a la fecha un meta-análisis que indique el rango o intervalo de credibilidad que podría generarse por la síntesis de estudios de prevalencia en animales.

La importancia de la LV radica especialmente en que esta es una enfermedad que cuando se presenta en el ser humano, especialmente en niños menores de 5 años, pero también en animales como el perro, puede llegar a ser fatal. Causa un compromiso

sistémico importante, incluyendo pancitopenia y graves complicaciones. En el caso de Colombia, está presente en 6 departamentos, en la Costa Caribe (Córdoba, Sucre y Bolívar) y en la región Andina (Cundinamarca, Tolima y Huila).

En Colombia se conoce la LV desde 1944. En el país hay dos focos de LV claramente identificados, el más importante de los cuales se encuentra en la zona costera del norte, donde *Lu. evansi* es el vector y se asocia a la transmisión del 88% del número total de casos. El segundo foco se encuentra en el valle del río Magdalena, donde *Lu. longipalpis* es el vector y representa el 12% de los casos. La mayoría de los casos (89%) ocurren en niños menores de cinco años. Alrededor de 3,449,831 personas están en riesgo de VL en seis departamentos, en la Costa Caribe (Córdoba, Sucre y Bolívar) y en la región Andina (Cundinamarca, Tolima y Huila) (6-8). Sin embargo, recientemente se han generado dudas si otros departamentos pudiesen ser endémicos, dados reportes recientes de LV en caninos, como el caso de Cali, Valle del Cauca (5). La incidencia de LV en Colombia en 2007 fue de 5,4 casos/100.000 habitantes.

Materiales y métodos

Protocolo:

Este protocolo siguió las recomendaciones establecidas por la declaración PRISMA (9).

Criterios de elegibilidad: Se incluyeron artículos publicados revisados por pares que informaron infección en animales con confirmación serológica o molecular de LV en animales. Para las pruebas serológicas, consideramos ELISA, IFI, IFAT, DPP y DAT. Para pruebas basadas en biología molecular, la PCR. No se estableció el límite de idioma del artículo, e incluimos publicaciones desde el 1 de enero de 1950 hasta la fecha en que se finalizó y finalizó la búsqueda (1 de febrero de 2020). Los artículos de revisión, los artículos de opinión y las cartas que no presentan datos originales se excluyeron del estudio, así como los estudios que informaron casos con información incompleta (Suplemento. Cuadro 1).

Fuentes de información y estrategia de búsqueda:

Realizamos una revisión sistemática utilizando Medline/PubMed, Scopus, Web of Sciences, LILACS, SciELO y Redalyc. Los términos de búsqueda utilizados fueron los siguientes: "visceral leishmaniasis", "*Leishmania infantum*", "*Leishmania chagasi*", "animals", "reservoirs". Las búsquedas concluyeron el 1 de febrero de 2020, y cuatro investigadores diferentes evaluaron de forma independiente los resultados de búsqueda.

Selección de estudios:

Los resultados de la estrategia de búsqueda inicial se seleccionaron primero por título y resumen. Se examinaron los textos completos de los artículos relevantes para los criterios de inclusión y exclusión (Figura 1). Cuando un artículo informaba información duplicada de los mismos sujetos, la información de ambos informes se combinaba para obtener datos complementarios, contando solo como un solo caso. Se incluyeron estudios de observación que informaron la frecuencia de animales infectados por *L. infantum/chagasi* para la síntesis cuantitativa (meta-análisis).

Proceso de recopilación de datos y elementos de datos:

Cuatro investigadores completaron de forma independiente los formularios de extracción de datos que incluyen información sobre el tipo de publicación, la institución editorial, el país, el año y la fecha de publicación, así como el número de animales infectados evaluados mediante pruebas serológicas o moleculares. Un quinto investigador verificó la lista de artículos y las extracciones de datos para asegurarse de que no hubiera artículos duplicados o información duplicada del mismo estudio y también resolvió las discrepancias sobre la inclusión del estudio.

Evaluación de la calidad metodológica y el riesgo de sesgo:

Para la evaluación de calidad, utilizamos la Lista de verificación de evaluación de calidad de estudios de series de casos del IHE y específicamente la herramienta de

evaluación crítica para evaluar la calidad de los estudios transversales (AXIS) (10, 11). El sesgo de publicación se evaluó utilizando un gráfico en embudo (funnel plot). Se usó un modelo de efectos aleatorios para calcular la prevalencia agrupada y el intervalo de confianza del 95% (IC95%), dados los grados variables de heterogeneidad de datos y la heterogeneidad inherente en cualquier revisión sistemática de estudios de la literatura publicada. Además, se realizó la prueba de Egger.

Enfoque estadístico:

La discordancia de unidades para las variables se resolvió convirtiendo todas las unidades a una medida estándar para esa variable. Los porcentajes y las medias \pm desviación estándar (DE) se calcularon para describir las distribuciones de variables categóricas y continuas, respectivamente. Dado que la información individual del paciente no estaba disponible para todos los pacientes, informamos medios ponderados y DE. Los datos de referencia se analizaron utilizando la versión 14.0 de Stata, con licencia de la Universidad Tecnológica de Pereira. Los meta-análisis se realizaron con Stata y el software Open Meta [Analista] (12) y Comprehensive Meta Analysis ve.3.3® licenciado por la Universidad Tecnológica de Pereira. Las prevalencias agrupadas y sus intervalos de confianza del 95% (IC del 95%) se usaron para resumir el tamaño del efecto ponderado para cada variable de agrupación de estudio utilizando el modelo binario de efectos aleatorios (la ponderación tomó en consideración los tamaños de muestra de los estudios individuales), a excepción de mediana de edad, donde se aplicó un modelo continuo de efectos aleatorios (procedimiento DerSimonian-Laird) (13, 14). Un modelo de meta-análisis de efectos aleatorios implica la suposición de que los efectos que se estiman en los diferentes estudios no son idénticos, sino que siguen cierta distribución. Para los análisis de efectos aleatorios, la estimación agrupada y los IC95% se refieren al centro de la distribución de la prevalencia agrupada, pero no describen el ancho de la distribución. A menudo, la estimación agrupada y su IC95% se citan de forma aislada como una estimación alternativa de la cantidad evaluada en un meta-análisis de efectos fijos, lo cual es inapropiado. El IC95% de un meta-análisis de efectos aleatorios describe la incertidumbre en la ubicación de la

media de prevalencia sistemáticamente diferente en los diferentes estudios. Se estimaron e informaron medidas de heterogeneidad, incluida la estadística Q de Cochran, el índice I² y la prueba de tau cuadrado. Realizamos análisis de subgrupos por técnicas, animales y países, y metaanálisis para cada una de las variables de interés. El sesgo de publicación se evaluó utilizando un gráfico en embudo. Se usó un modelo de efectos aleatorios para calcular la prevalencia agrupada y el IC95%, dados los grados variables de heterogeneidad de datos y la heterogeneidad inherente en cualquier revisión sistemática de estudios de la literatura publicada.

Resultados y Discusión:

Se obtuvo un total de 70.36 artículos (1960-2019). Después de la selección por resumen/título, se seleccionaron 75 artículos para la evaluación de texto completo. De ellos, 65 fueron finalmente incluidos para análisis cualitativos y cuantitativos. De un total de 29 estudios (n=22.259 animales), la seroprevalencia combinada por ELISA en perros fue de 20,6% (IC95%:17,0-24,1%) (Figura 2); por IFI/IFAT (n=15.348) fue de 18,0% (IC95%:14,3-21,7%) (Figura 3); por DPP (n=10.607) de 15,6% (IC95%:8,4-22,8%) (Figura 4); por DAT (n=3.923) de 16,4% (IC95%:7,3-25,4%) (Figura 5); y la prevalencia por PCR (n=3.303) de 39,2% (IC95%:30,6-47,7%) (Figura 6). En gatos (6 estudios), la seroprevalencia combinada por ELISA (n=391) fue de 34,0% (IC95%:7,3-60,6%) (Figura 7), por IFI/IFAT (n=561) de 18,5% (IC95%:6,6-30,5%) (Figura 8), y la prevalencia por PCR (n=865) de 6,2% (IC95%:2,9-9,5%) (Figura 9). No se evidenciaron sugerencias de sesgos en los estudios serológicos y moleculares para perros o gatos (p>0,05).

La leishmaniasis visceral continúa siendo un problema considerable de salud pública. Los reservorios animales juegan en ello un papel muy importante (15-18). En el presente meta-análisis, las prevalencias por pruebas moleculares mostraron valores significativamente más altos en perros que en gatos para LV (>10 veces), en tanto no se observaron diferencias significativas en seroprevalencias (~6-60%). Estos hallazgos son coherentes con lo planteado históricamente en torno a la importancia del perro

(*Canis lupus familiaris*) como reservorio de la LV. Sin embargo, en algunos países con reemergencia de LV, como es el caso de Venezuela, el papel del gato (*Felis silvestris catus*) debe reevaluarse, dado que ciertos estudios han encontrado en ellos alta prevalencia de infección por diferentes especies de *Leishmania* (19), por lo cual se deben llevar a cabo más estudios. El hallazgo reciente de un caso de LV canina en Cali, Colombia (5), preocupa y llama la atención al estar fuera de los departamentos clásicamente endémicos del país y también implicaría realizar estudios, al menos de seroprevalencia en caninos en este y otros departamentos.

Conclusiones y Recomendaciones:

La leishmaniasis visceral es muy prevalente en animales domésticos, como el gato y especialmente el perro. En países como Colombia, debe evaluarse más exhaustivamente su papel, no solo en departamentos endémicos sino también más allá de ellos.

Agradecimientos:

Se les agradece a Adrián Esteban Trejos-Mendoza, Soffia Pérez-Vargas, Yeimer Holguin-Rivera, Isabella Cortés-Bonilla, Estefania Gutiérrez-Ocampo, Luisa M. García-Zuluaga, Rhuvi Villamizar-Peña, María C. Cardona-Trujillo, quienes apoyaron en el desarrollo de esta investigación.

Bibliografía

1. Cardenas R, Sandoval CM, Rodriguez-Morales AJ, Franco-Paredes C. Impact of climate variability in the occurrence of leishmaniasis in northeastern Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2006;75(2):273-7.
2. Perilla-Gonzalez Y, Gomez-Suta D, Delgado-Osorio N, Hurtado-Hurtado N, Baquero-Rodriguez JD, Lopez-Isaza AF, et al. Study of the scientific production on leishmaniasis in Latin America. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. 2014;9(3):216-22.

3. Villamil-Gomez WE, Calderon-Gomezcaseres A, Rodriguez-Morales AJ. Visceral leishmaniasis in a patient with systemic lupus erythematosus from Colombia, Latin America. *Infez Med.* 2019;27(1):106-8.
4. Murillo J, Montoya A, Carrillo-Bonilla L, Rodriguez B, Velez ID, Robledo SM. Verification and monitoring of visceral leishmaniasis in hamsters caused by *Leishmania infantum*, using non-invasive approaches involving ultrasound imaging and blood gases. *Exp Parasitol.* 2019;201:78-89.
5. Arbelaez N, Moreno J, Murillo J, Montoya A, Robledo SM, Velez A, et al. First Report of an Urban Case of Canine Visceral Leishmaniasis in the Municipality of Cali, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;102(2):289-93.
6. Ardila MM, Carrillo-Bonilla L, Pabon A, Robledo SM. Surveillance of phlebotomine fauna and *Didelphis marsupialis* (Didelphimorphia: Didelphidae) infection in an area highly endemic for visceral leishmaniasis in Colombia. *Biomedica.* 2019;39(2):252-64.
7. Corredor A, Gallego JF, Tesh RB, Morales A, De Carrasquilla CF, Young DG, et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 1989;40(5):480-6.
8. Velez ID, Colmenares LM, Munoz CA. Two cases of visceral leishmaniasis in Colombia resistant to meglumine antimonial treatment. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2009;51(4):231-6.
9. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009;6(7):e1000097.
10. Institute of Health Economics (IHE). Quality Appraisal of Case Series Studies Checklist Edmonton (AB): Institute of Health Economics; 2014 [Available from: <http://www.ihe.ca/research-programs/rmd/cssqac/cssqac-about>].
11. Downes MJ, Brennan ML, Williams HC, Dean RS. Development of a critical appraisal tool to assess the quality of cross-sectional studies (AXIS). *BMJ Open.* 2016;6(12):e011458.

12. Wallace B, Dahabreh I, Trikalinos T, Lau J, Trow P, ... Closing the gap between methodologists and end-users: R as a computational back-end: core.ac.uk; 2012.
13. Viechtbauer W. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. Journal of statistical software. 2010.
14. Kontopantelis E, Reeves D. Performance of statistical methods for meta-analysis when true study effects are non-normally distributed: a comparison between DerSimonian-Laird and restricted maximum likelihood. Stat Methods Med Res. 2012;21(6):657-9.
15. Costa CH, Pereira HF, Pereira FC, Tavares JP, Araujo MV, Goncalves MJ. Is the household dog a risk factor for American visceral leishmaniasis in Brazil? Trans R Soc Trop Med Hyg. 1999;93(5):464.
16. Gavvani AS, Hodjati MH, Mohite H, Davies CR. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. Lancet. 2002;360(9330):374-9.
17. Mendoza L, Podetti M, Chavez F, Zeledon R. Visceral leishmaniasis in a dog introduced into Costa Rica. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1983;77(2):283-4.
18. Ngoka JM, Mutinga MJ. The dog as a reservoir of visceral leishmaniasis in Kenya. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1977;71(5):447-8.
19. Paniz Mondolfi AE, Colmenares Garmendia A, Mendoza Perez Y, Hernandez-Pereira CE, Medina C, Vargas F, et al. Autochthonous cutaneous leishmaniasis in urban domestic animals (*Felis catus* / *Canis lupus familiaris*) from central-western Venezuela. Acta Trop. 2019;191:252-60.

Figura 1. Estrategia de búsqueda de acuerdo al parámetro PRISMA.

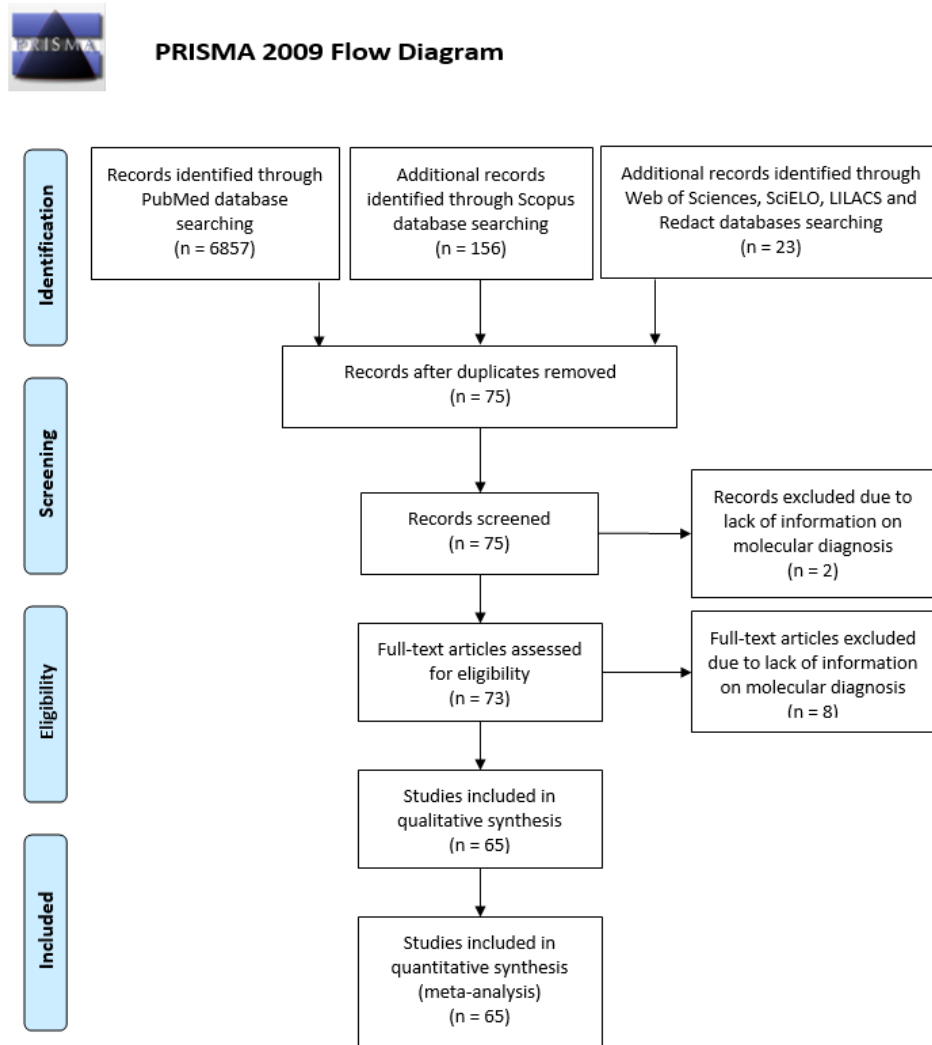


Figura 2. Seroprevalencia combinada por ELISA para perros.

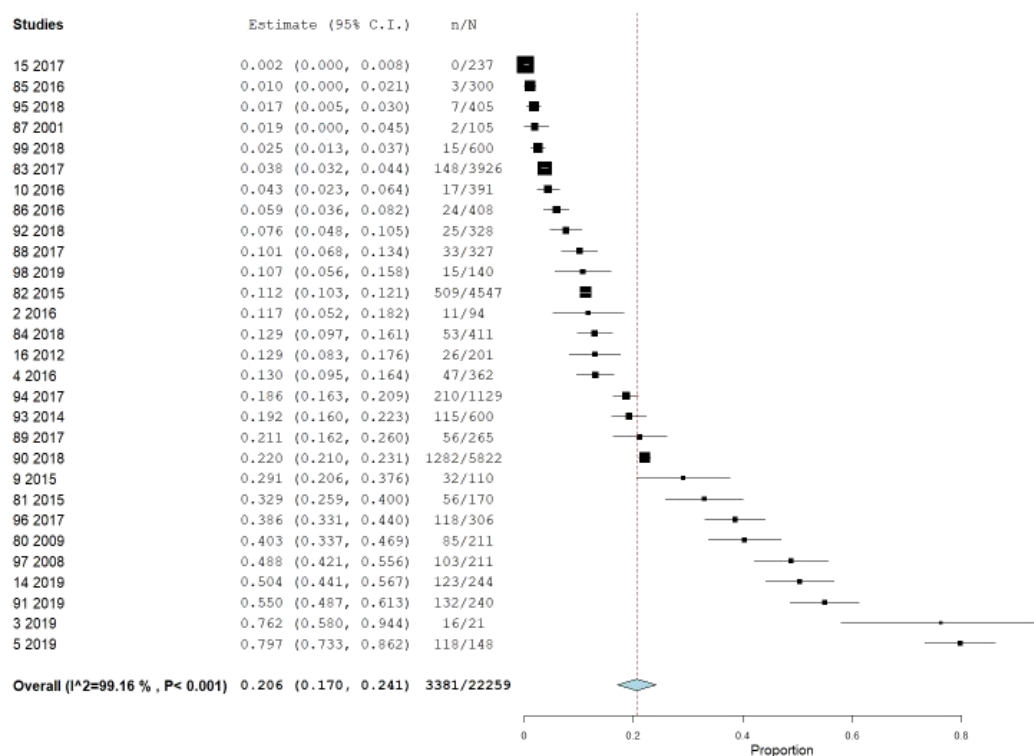


Figura 3. Seroprevalencia combinada por IFI/IFAT para perros.

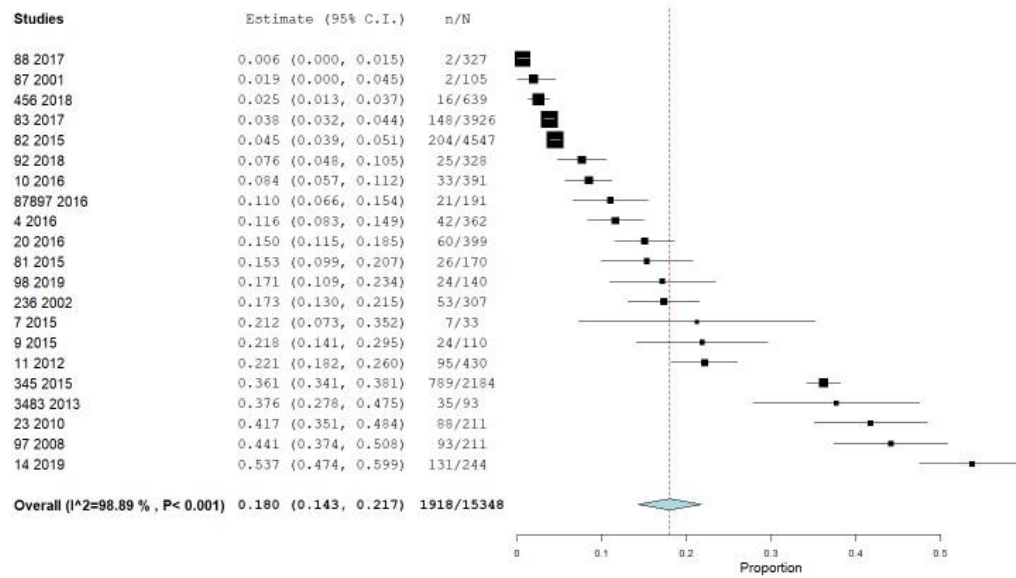


Figura 4. Seroprevalencia combinada por DPP para perros.

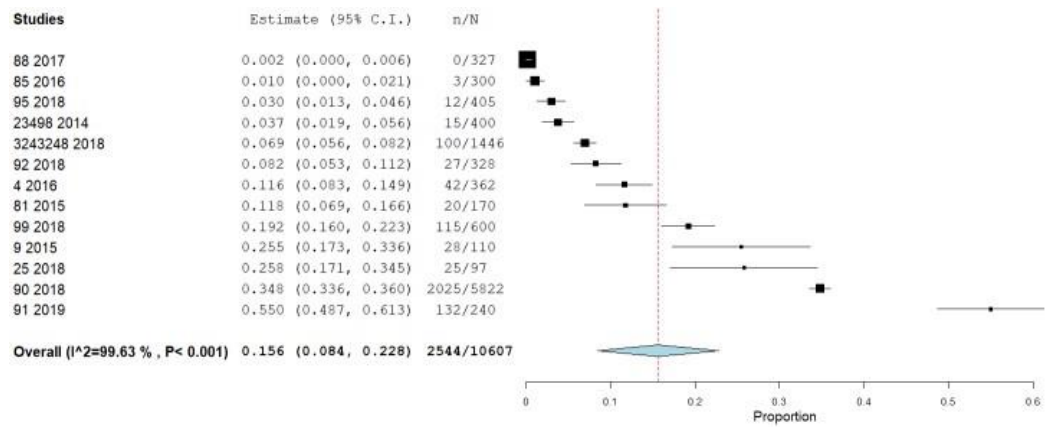


Figura 5. Seroprevalencia combinada por DAT para perros.

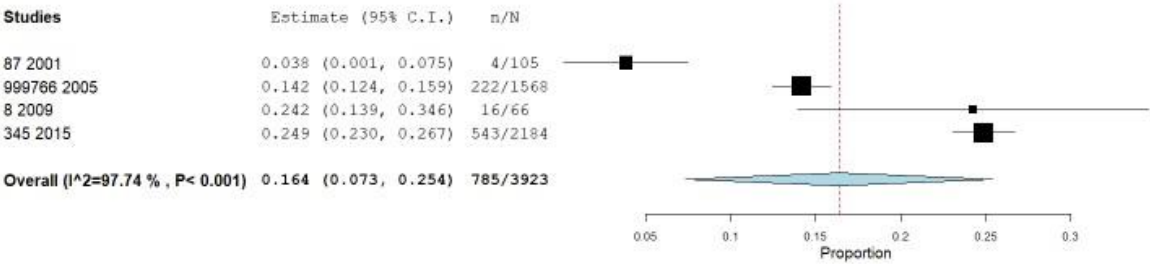


Figura 6. Prevalencia combinada por PCR para perros.

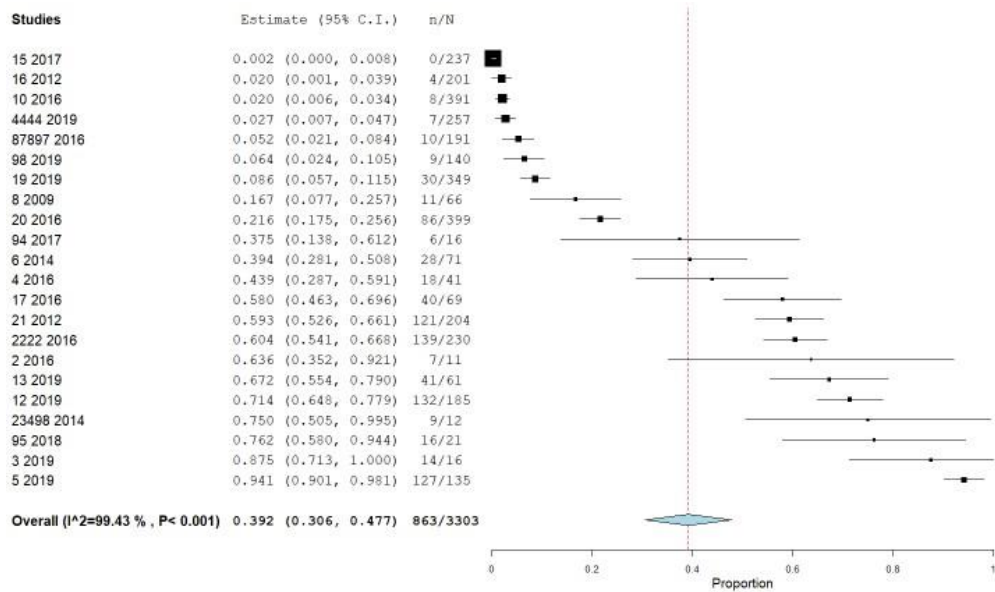


Figura 7. Seroprevalencia combinada por ELISA para gatos.

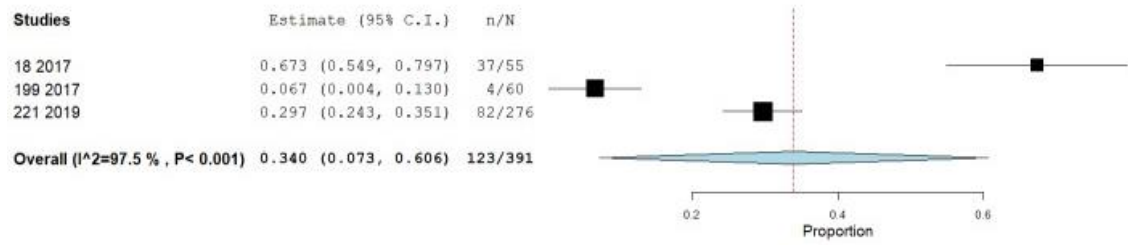


Figura 8. Seroprevalencia combinada por IFI/IFAT para gatos.

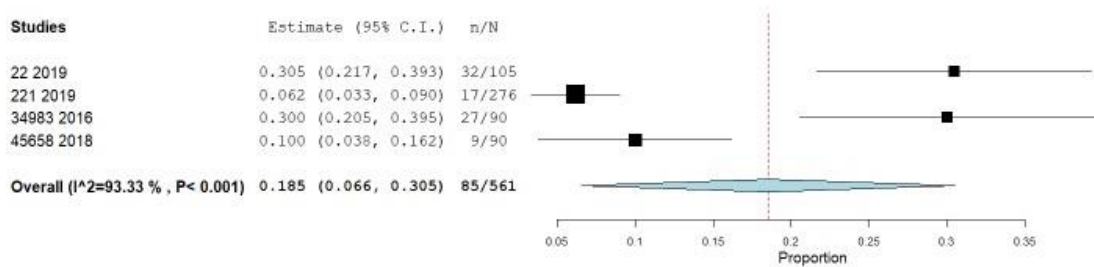
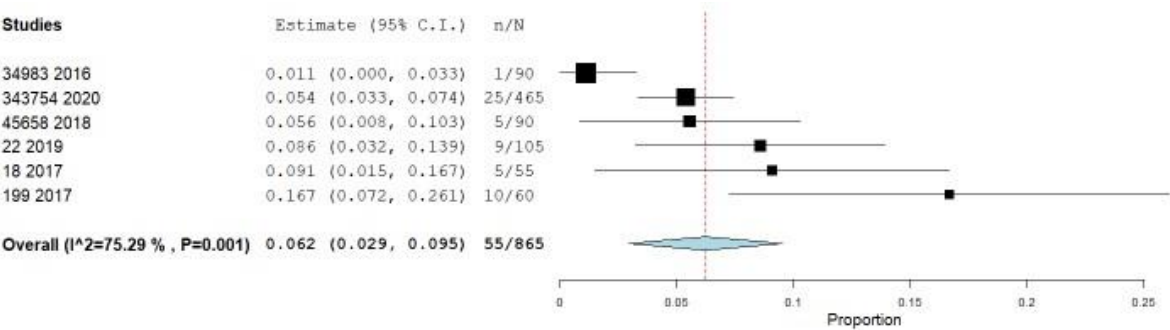


Figura 9. Prevalencia combinada por PCR para gatos.



Suplemento. Cuadro 1. Estudios incluidos en la Revisión Sistemática y sus principales características y resultados.

Número/ Código	Título, Estudio	Año de Publicación	País	Tipo de Estudio	Animales	Técnicas																										
						ELISA			IFI/IFAT			PCR			Snap-4DX			DPP			DAT			rk39			Western-blot					
						N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%
1	A Molecular and Serological Study on Visceral Leishmaniasis in Asymptomatic Stray Perros in Mashhad, Iran	2016	Irán	Seroprevalencia	Perros	94	11	11.7				11	7	63.6																		
2	Application of qPCR method to hair and cerumen samples for the diagnosis of canine leishmaniosis in Araçatuba, Brazil	2019	Brazil	Seroprevalencia	Perros	21	16	76.2				16	14	87.5																		
3	Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico	2016	Brazil	Prevalencia	Perros	362	47	13.0	362	42	11.6	41	18	43.9				362	42	11.6												
4	Assessment of histological liver alterations in Perros naturally infected with Leishmania infantum	2019	Brazil		Perros	148	118	79.7				135	127	94.1																		
5	Awareness of visceral leishmaniasis and its relationship to canine infection in riverside endemic areas in Northeastern Brazil	2014	Brazil	Prevalencia	Perros							71	28	39.4																		
6	Brote urbano de leishmaniasis visceral en Neiva, Colombia	2015	Colombia		Perros				33	7	21.2												1149	65	5.7							
7	Canine visceral leishmaniasis: asymptomatic infected Perros as a source of L. infantum infection	2009	Irán	Prevalencia	Perros							66	11	16.7							66	16	24.2									

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

Número/ Código	Título, Estudio	Año de Publicación	País	Tipo de Estudio	Animales	Técnicas																										
						ELISA			IFI/IFAT			PCR			Snap-4DX			DPP			DAT			rk39			Western-blot					
						N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%
35	other endoparasite infections in kennel Perros in central Italy Leishmania infantum-specific IFN-γ production in stimulated blood from Gatos living in areas where canine leishmaniosis is endemic	2019	Italy - Spain	Prevalencia	Perros	140	15	10.7	140	24	17.1	140	9	6.4																		
36	Leishmania infantum in wild animals in endemic areas of southern Italy	2019	Italy	Prevalencia	wild animals Carcasses (73 lagomorphs 19 carnivores)							92	5	5.4									40	1	2.5							
37	Leishmaniasis Visceral Canina: Pruebas Diagnósticas no identifican Estados Reales de la Infección	2008	Colombia	Prevalencia	Perros	211	103	48.8	211	93	44.1																					
38	Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais	2017	Brazil	Prevalencia	Perros	306	118	38.6																								
39	Molecular and seroprevalence of canine visceral leishmaniasis in West Anatolia, Turkey	2016	Turkey	Prevalencia	Perros				191	21	11.0	191	10	5.2																		
40	Molecular detection of Leishmania infantum, filariae and Wolbachia spp. in Perros from southern Portugal	2016	Portugal	Prevalencia	Perros							230	139	60.4																		
41	Molecular Method Confirms Canine	2018	Brazil	Prevalencia	Perros	405	7	1.7				21	16	76.2				405	12	3.0												

[illegible]

Número/ Código	Título, Estudio	Año de Publicación	País	Tipo de Estudio	Animales	Técnicas																										
						ELISA			IFI/IFAT			PCR			Snap-4DX			DPP			DAT			rk39			Western-blot					
						N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%	N	n(+)	%
49	Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in Perros in an endemic area of Brazil	2014	Brazil	Prevalencia	Perros	600	115	19.2																								
50	Prevalence of visceral leishmaniasis in A population of free-roaming Perros as determined by multiple sampling efforts: A longitudinal study analyzing the effectiveness of euthanasia	2018	Brazil	Prevalencia	Perros	328	25	7.6	328	25	7.6							328	27	8.2												
51	Prevalência Da Leishmaniose Visceral Canina E Coinfecções Em Região Periurbana No Distrito Federal – Brasil	2019	Brazil	Prevalencia	Perros	240	132	55.0										240	132	55.0												
52	Prevalencia de Leishmaniosis Visceral Canina en Municipios de Huila – Colombia	2002	Colombia	Prevalencia	Perros				307	53	17.3																					
53	Risk profile for Leishmania infection in Perros coming from an area of visceral leishmaniasis reemergence	2018	Brazil	Prevalencia	Perros	5822	1282	22.0										5822	2025	34.8												
54	Scoring clinical signs can help diagnose canine visceral leishmaniasis in a highly endemic area in Brazil	2017	Brazil	Prevalencia	Perros	265	56	21.1																								
55	Serodiagnosis of visceral and cutaneous leishmaniasis in human and canine populations living in Indigenous Reserves in the Brazilian Amazon Region	2017	Brazil	Prevalencia	Perros	327	33	10.1	327	2	0.6							327	0	0.0												

[illegible]

[illegible]